

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2005 年 10 月 13 日 (13.10.2005)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2005/095436 A1(51) 国際特許分類: C07J 17/00, A23L  
1/30, A61K 31/704, 35/78, A61P 3/10LTD.) [JP/JP]; 〒1088384 東京都港区芝五丁目 3 3 番  
1 号 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2005/006019

(72) 発明者; および

(22) 国際出願日: 2005 年 3 月 30 日 (30.03.2005)

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 樋口 隆一  
(HIGUCHI, Ryuichi) [JP/JP]; 〒8140121 福岡県福岡  
市城南区神松寺一丁目 9 番 2 0 号 Fukuoka (JP). 稲  
垣 昌宣 (INAGAKI, Masanori) [JP/JP]; 〒8130025 福  
岡県福岡市東区青葉六丁目 2 6 番 2 号 Fukuoka (JP).  
早澤 宏紀 (HAYASAWA, Hiroto) [JP/JP]; 〒1088384  
東京都港区芝五丁目 3 3 番 1 号 森永乳業株式会  
社内 Tokyo (JP). 山田 宗夫 (YAMADA, Munee) [JP/JP];  
〒2288583 神奈川県座間市東原五丁目 1 番 8 3 号 森  
永乳業株式会社 生物科学研究所内 Kanagawa (JP).  
田中 美順 (TANAKA, Miyuki) [JP/JP]; 〒2288583 神  
奈川県座間市東原五丁目 1 番 8 3 号 森永乳業株式  
会社 生物科学研究所内 Kanagawa (JP). 三澤 江里子

(25) 国際出願の言語: 日本語

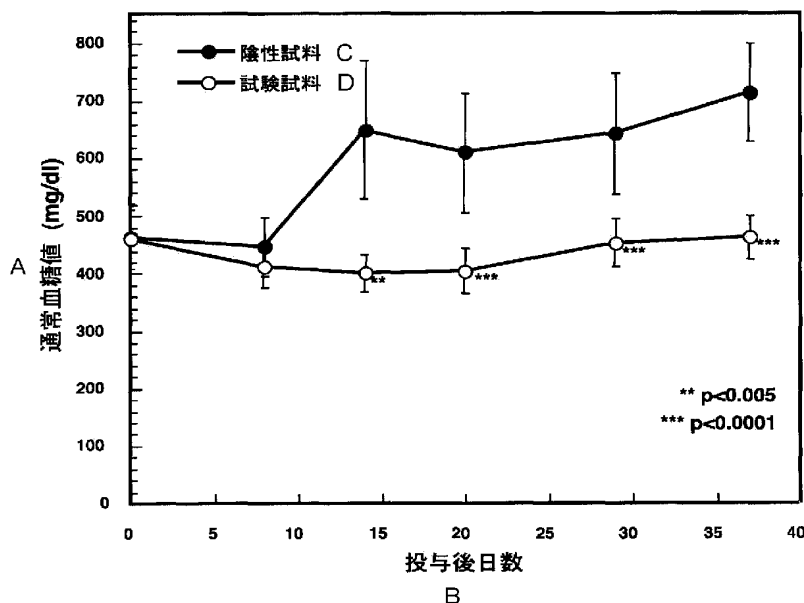
(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願2004-103684 2004 年 3 月 31 日 (31.03.2004) JP  
特願2004-112108 2004 年 4 月 6 日 (06.04.2004) JP(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 森永  
乳業株式会社 (MORINAGA MILK INDUSTRY CO.,

[続葉有]

(54) Title: GLYCOSIDE HAVING 4-METHYLERGOST-7-EN-3-OL SKELETON AND DRUG FOR AMELIORATING HYPER-  
GLYCEMIA

(54) 発明の名称: 4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール骨格を有する配糖体及び高血糖改善剤

(57) Abstract: 3-O- $\beta$ -D-Glucopyranosyl-4-methylergost-7-en-3-ol or an extract of a liliaceae plant or a fraction thereof containing this compound, which is a composition containing 0.001% by mass or more of the above compound, is used as the active ingredient of a drug for ameliorating hyperglycemia.(57) 要約: 3-O- $\beta$ -D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール、又は同化合物を含むユリ科植物の抽出物又はその分画物であって、前記化合物を0.001質量%以上含む組成物を、高血糖改善剤の有効成分とする。A... NORMAL BLOOD GLUCOSE LEVEL (mg/dl)  
B... ADMINISTRATION TIME (DAYS)  
C... NEGATIVE SAMPLE  
D... TEST SAMPLE



(MISAWA, Eriko) [JP/JP]; 〒2288583 神奈川県座間市東原五丁目 1 番 8 3 号 森永乳業株式会社 生物科学研究所内 Kanagawa (JP). 脇元 式子 (WAKIMOTO, Noriko) [JP/JP]; 〒2288583 神奈川県座間市東原五丁目 1 番 8 3 号 森永乳業株式会社 生物科学研究所内 Kanagawa (JP). 伊藤 洋介 (ITOU, Yousuke) [JP/JP]; 〒2288583 神奈川県座間市東原五丁目 1 番 8 3 号 森永乳業株式会社 生物科学研究所内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 川口 嘉之, 外(KAWAGUCHI, Yoshiyuki et al.); 〒1030004 東京都中央区東日本橋 3 丁目 4 番 10 号 アクロポリス 21 ビル 6 階 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA,

NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 *PCT* ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

## 明 細 書

4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール骨格を有する配糖体及び高  
血糖改善剤

## 技術分野

- [0001] 本発明は、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール骨格を有する新規配糖体 3-O- $\beta$ -D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール及びそれを含む組成物、並びにこれらを含む医薬もしくは又は飲食品に関する。

## 背景技術

- [0002] 4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールは、植物中に存在する物質であることが知られている(非特許文献1)。しかし、この化合物における先行技術については、同化合物に類似の構造を有するロフェノール(4-メチルコレスト-7-エン-3-オールの立体異性体の一つ)の生合成系に関するもののみであり(非特許文献2)、これらの化合物の用途については全く未知のものであった。
- [0003] ユリ科アロエ属は、アロエベラ(*Aloe barbadensis* Miller)やキダチアロエ(*Aloe arborescens* Miller var. *natalensis* Berger)等を含む植物群で、様々な効能があることが経験的に知られており、アロエ属植物の用途に関する先行技術には、免疫修飾性多糖類(特許文献1)、アロエ抽出物のブタノール画分又はアロインを含有することを特徴とする免疫抑制改善剤(特許文献2)、HSP60ファミリーに属するタンパク質のアロイン誘導体含有合成抑制剤(特許文献3~5)、アロエ葉皮由来のレクチン活性蛋白質(特許文献6)などがある。
- [0004] アロエ属植物の血糖値改善に関する先行技術としては、米国での臨床試験(非特許文献3)や、動物での血糖値降下作用(非特許文献4および非特許文献5)、アロエ属植物中の多糖類(特許文献7)が開示されているが、これら先行技術では、アロエ属植物の血糖値降下作用成分は、多糖類又は糖たんぱく質と予測されていた。また、アロエベラ圧搾液及び該圧搾液を有効成分とする血糖値降下剤(特許文献8)では、FT-IRチャートにおけるエステル基特有のピークが活性と関連し、有効成分は多糖類、アミノ酸、りんご酸等であって、また、市販のアロエベラゲル粉末、アロエベラ

ゲル液、又はアロエベラゲル抽出液では、前記有効成分が損なわれていると開示されている。さらに、この他にも、アロエ多糖類における血糖値降下作用(特許文献9)、アロエに含まれる7-ヒドロキシクロモンの抗酸化作用(特許文献10)がそれぞれ開示されている。

[0005] 尚、アロエベラ葉皮には、緩下作用を持つバロバロインやアロエエモジンが含まれており、従来、産業上好ましくないとされていた。

ヘモグロビンA1cは、グルコースとヘモグロビンの結合物で、糖濃度に依存して高血糖の程度に応じて増加し、一度生成されたヘモグロビンA1cは、赤血球寿命(120日)が尽きるまで消滅しないので、過去の長期間の血糖コントロール状態を反映する(非特許文献6)。ヘモグロビンA1cは、1996年から老人健康法の基本健康審査の選択検査に採用され、1999年の糖尿病の新診断基準においては、糖尿病の補助的な診断指標として採用されていることから、臨床的に大きな意義がある指標と考えられる(非特許文献7)。

[0006] 高血糖の状態が持続すると、グルコース特異的インスリン分泌不全とインスリン抵抗性が認められ、高血糖をさらに悪化させる要因となっている(非特許文献8)。高血糖状態から糖尿病の発症を予防する為には、長期的な血糖値のコントロールが必要であることより、ヘモグロビンA1cの値の上昇を抑制することが必要となってくると考えられる。前糖尿病(糖尿病として疑われる状態)における、血糖値のコントロールを行う為に、食事療法や、運動が推進されている。食後の血糖値上昇を抑えるための機能性食品(特定保健用食品)には、様々なものが既に販売されているが、いずれも一過性の血糖値上昇抑制効果に過ぎない。よって、長期間にわたる血糖値のコントロールまでは、期待できるものではなく、今回のヘモグロビンA1c低下作用物質の開発が切望されていた。

[0007] また、現在、糖尿病の治療薬としては、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤、インシュリン分泌促進剤としてスルホニルウレア薬や、インシュリン抵抗性改善薬としてチアゾリジン誘導体などが医薬品として用いられている。しかしその薬効は満足するものでなく、また急激に血糖が下がることにより昏睡状態を引き起こす副作用などの問題も多い。

[0008] 以上の状況から、低血糖を引き起こさず安全に摂取でき、かつ、ヘモグロビンA1c

値を低下させる長期血糖値コントロール作用を持つ物質の発見が切望されていた。

[0009] 従来、先行技術文献には、血糖値の上昇を抑制する効果を有するものとして、例えば、バナバに由来する成分を含む血糖値上昇抑制剤(特許文献11)、麦類発酵物の濃縮エキスを有効成分とする血糖値上昇抑制剤(特許文献12)等が開示されている。

[0010] また、トリテルペン配糖体を有効成分とする技術としては、例えば、ギムネマイノドラムより抽出された配糖体を有効成分とする糖尿病の予防剤(特許文献13)、バナバより抽出されたコロソリン酸を有効成分として含む代謝改善方法およびそのための組成物(特許文献14)、リパーゼ阻害剤(特許文献15)、免疫抑制活性を有するトリテルペン誘導体(特許文献16)が開示されている。

[0011] また、ラノスタン骨格、又は3, 4-セコラノスタン骨格を有する化合物によるインスリン作用増強活性(特許文献17)では、膵臓における疾患に対する効果は不明であるものの、その効果は脂肪細胞の分化調節におけるインスリンの作用を増強させるものとして開示されている。

[0012] さらに、ステロイド基本骨格の部分に2重結合を含まない24-アルキルコレステレン-3オン及び24-アルキルコレスタン-3オンからなる群から選ばれる化合物が血糖降下剤として開示されている(特許文献18)。

[0013] 類似構造物である4-メチルスチグマスト-7-エン-3-オール骨格を有する配糖体としては、3-O- $\beta$ -D-グルコピラノシル-4-メチルスチグマスト-7-エン-3-オールが瓜科の植物であるブリトニー(Bryonia alba)に含まれていることが報告されている(非特許文献9)が、一般的に食経験がある植物とは言えず、また全合成の例もない。

特許文献1:特表2001-520019号公報

特許文献2:特開平08-208495号公報

特許文献3:特開平10-120576号公報

特許文献4:特開平10-045604号公報

特許文献5:特開平10-036271号公報

特許文献6:特開平09-059298号公報

特許文献7:特開昭60-214741号公報

特許文献8:特開2003-286185号公報

特許文献9:米国特許第4598069号明細書

特許文献10:米国特許出願公開第2003/0207818号明細書

特許文献11:特開2003-095941号公報

特許文献12:特開2002-371003号公報

特許文献13:特開平05-247086号公報

特許文献14:特開2002-205949号公報

特許文献15:特開平09-040689号公報

特許文献16:特表平11-511482号公報

特許文献17:特開平10-330266号公報

特許文献18:特開2003-048837号公報

非特許文献1:ケミ、ファム、ブル(Chem. Pharm. Bull.)、第624～626ページ、1993年

非特許文献2:バイオケミカ バイオケミカ アクタ(Biochemica Biophysica Acta)、第63～88ページ、2000年

非特許文献3:フィトメデシン(Phytomedicine)、第3巻、第245～248ページ、1996年

非特許文献4:フィトセラピー リサーチ(Phytotherapy Research)、第15巻、第157～161ページ、2001年

非特許文献5:フィトセラピー リサーチ(Phytotherapy Research)、第7巻、第37～42ページ、1993年

非特許文献6:日本臨床、通巻第748号、第1巻、第615～617ページ、1999年

非特許文献7:日本臨床、通巻第808号、第2巻、第405～409ページ、2002年

非特許文献8:矢崎義雄・村松正寛監修、「糖尿病の最前線」、第126～139ページ、羊土社、1997年

非特許文献9:ヒーマヤ プリロードヌイフ サエヂネーニイ(Khimiya Prirodnikh Soedinenii)、第3巻、ソ連、1977年

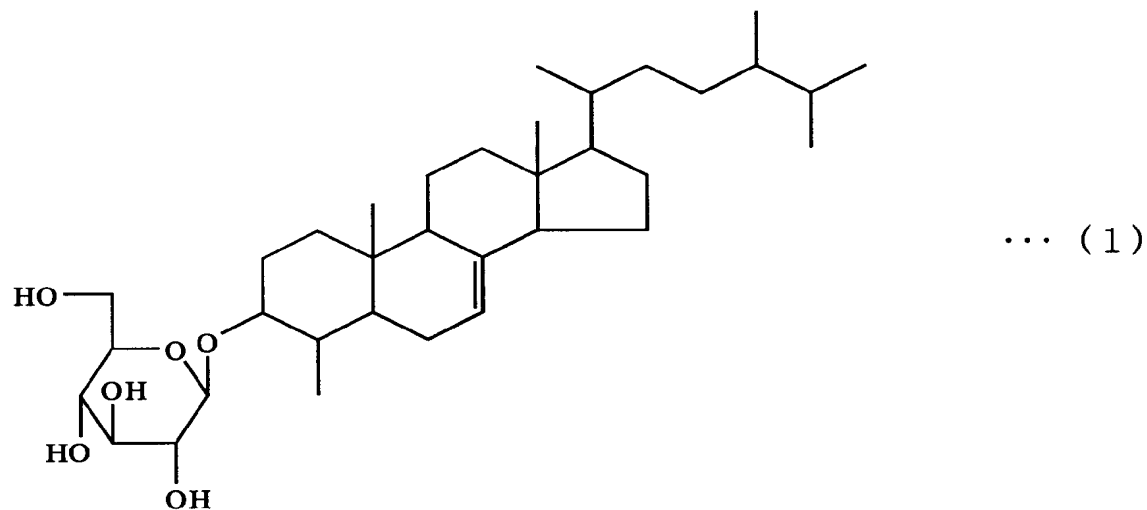
## 発明の開示

[0014] 本発明の課題は、低血糖を引き起こさずに安全に摂取でき、かつ、ヘモグロビンA1c値を低下させる、長期血糖値コントロール作用を有する新規化合物の提供である。本発明の他の課題は、食経験上安全に摂取でき、かつ、入手容易な原料から、産業上好ましくない成分を含まず、かつ、前記化合物の有効量を含む組成物を製造する方法の開発である。

[0015] 本発明者らは、上記の課題を解決すべく鋭意研究を行った結果、アロエベラ(*Aloe barbadensis* Miller)の葉肉(透明ゲル部分)から抽出、精製した新規配糖体である、3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールが、低血糖を引き起こさずに安全に摂取でき、かつ、ヘモグロビンA1c値を低下させる長期血糖値コントロール作用を有することを見出した。本発明は、上記の知見に基づき完成されたものである。

[0016] すなわち本発明は、下記化学式(1)で示される構造をもつ化合物(以下、「本発明の化合物」ともいう)である。

[0017] [化1]



[0018] また本発明は、本発明の化合物を、乾燥質量で0.001質量%以上含む組成物(以下、「本発明の組成物」ともいう)を提供する。本発明の組成物は、ユリ科植物の抽出物又はその分画物であることが好ましく、ユリ科植物がアロエベラ(*Aloe barbadensis* Miller)であることを特に好ましい態様としている。

[0019] また本発明は、本発明の化合物又は本発明の組成物を有効成分として含む、高血糖改善剤(以下、「本発明の薬剤」ともいう)を提供する。

[0020] また本発明は、前記高血糖改善剤を含む医薬又は飲食品を提供する。

また本発明は、本発明の化合物又は本発明の組成物を有効成分として含み、高血糖改善作用を有するものであることを特徴とし、高血糖改善のために用いられる旨の表示を付した飲食品を提供する。

以下、上記医薬又は飲食品を、総称して「本発明の医薬又は飲食品」ということがある。

[0021] 本発明はさらに、本発明の化合物、又は本発明の組成物の製造方法であって、請求項1に記載の化合物を含むユリ科植物、又はその一部若しくはそれらの破碎物から、同化合物を含む画分を有機溶媒又は熱水を用いて抽出し、及び濃縮することを特徴とする方法を提供し、ユリ科植物がアロエベラ(*Aloe barbadensis* Miller)であることを特に好ましい態様としている。

[0022] 本発明はまた、高血糖改善用の医薬の製造における、本発明の化合物又はそれを含む組成物の使用を提供する。本発明の使用は、前記組成物が、前記化合物を乾燥質量で0.001質量%以上含むユリ科植物の抽出物又はその分画物であることが好ましく、ユリ科植物がアロエベラ(*Aloe barbadensis* Miller)であることを特に好ましい態様としている。

[0023] 本発明はまた、高血糖を改善する方法であって、本発明の化合物又はそれを含む組成物を、高血糖を改善しようとする対象に投与することを特徴とする方法を提供する。本発明の方法は、前記組成物が、前記化合物を乾燥質量で0.001質量%以上含むユリ科植物の抽出物又はその分画物であることが好ましく、ユリ科植物がアロエベラ(*Aloe barbadensis* Miller)であることを特に好ましい態様としている。

#### 図面の簡単な説明

[0024] [図1]本発明の配糖体のアグリコン部のアセチル化体のGC-MSスペクトル(図面に代る写真:ディスプレイ上に表示した中間調画像)。

[図2]本発明の配糖体のアグリコン部のアセチル化体の<sup>13</sup>C-NMRチャート(図面に代る写真:ディスプレイ上に表示した中間調画像)。



[図3]本発明の化合物を投与したマウスの通常血糖値の経時的変化を示す図。

[図4]本発明の化合物を投与したマウスの空腹時血糖値の経時的変化を示す図。

### 発明を実施するための最良の形態

- [0025] 次に、本発明の好ましい実施形態について詳細に説明する。ただし、本発明は以下の好ましい実施形態に限定されず、本発明の範囲内で自由に変更することができるものである。
- [0026] 本発明の化合物は、前記化学式(1)で表される構造をもつ化合物、すなわち3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールである。すなわち、本発明の化合物は、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールの3位の水酸基と、D-グルコースの1位の水酸基が脱水縮合した構造を有している。
- [0027] また、本発明の組成物は、本発明の化合物を、乾燥質量で0.001質量%以上、好ましくは0.01質量%以上、より好ましくは0.1質量%以上含む、ユリ科植物の抽出物又はその分画物である。本発明の組成物に含まれる本発明の化合物の含有量の上限は特に制限されないが、50質量%、もしくは70質量%、又は90質量%が例示できる。
- [0028] 本発明の化合物又はそれを含む組成物は、例えば、ユリ科植物に属し、本発明の化合物を含む植物もしくはその一部又はそれらの破碎物から、同化合物を含む画分を有機溶媒又は熱水を用いて抽出、濃縮することにより、製造することができる。
- [0029] 前記ユリ科に属する植物としては、アロエ属又はアリウム属に属する植物が挙げられる。アロエ属植物としては、アロエベラ(Aloe barbadensis Miller)、アロエフェロックスミラー(Aloe ferox Miller)、アロエアフリカーナミラー(Aloe africana Miller)、キダチアロエ(Aloe arborescens Miller var. natalensis Berger)、アロエスピカータベイカー(Aloe spicata Baker)等が挙げられる。本発明の化合物又はそれを含む組成物の製造においては、前記植物の全体を用いてもよいが、葉肉(透明ゲル部分)を用いることが好ましい。このような植物又はその一部を、好ましくはホモジナイザー等を用いて破碎して液状化し、有機溶媒又は熱水で抽出する。有機溶媒としては、メタノール、エタノール、ブタノール等のアルコール；酢酸メチル、酢酸エチル、酢酸プロピル、酢酸ブチル等のエステル；アセトン、メチルイソブチルケトン等のケトン；ジエチルエーテル、石

油エーテル等のエーテル；ヘキサン、シクロヘキサン、トルエン、ベンゼン等の炭化水素；四塩化炭素、ジクロロメタン、クロホルム等のハロゲン化炭化水素；ピリジン等の複素環化合物、エチレングリコール等のグリコール；ポリエチレングリコール等のポリアルコール；アセトニトリル等のニトリル溶媒、及びこれらの溶媒の混合液等が挙げられる。また、これらの溶媒は無水であってもよく、含水状態であってもよい。これらの溶媒の中では、特に、酢酸エチル／ブタノール混合液（3：1）、若しくはクロロホルム／メタノール混合液（2：1）が好ましい。

[0030] 抽出方法としては、通常の植物成分の抽出に用いられる方法を用いることができる。通常、新鮮な植物又は乾燥植物1質量部に対し、有機溶媒1～300質量部を用いて、攪拌又は振盪しながら、溶媒の沸点以下の温度で加熱還流するか、常温で超音波抽出する方法が挙げられる。抽出液は、濾過又は遠心分離等の適当な方法により、不溶物を分離して粗抽出物を得ることができる。

[0031] 粗抽出物は、各種クロマトグラフィー、例えば順相又は逆相のシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより、精製することができる。順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおいては、溶出溶媒としてクロロホルム／メタノール混合液のグラジエントを用いると、クロロホルム：メタノール＝5：1程度で本発明の化合物が溶出される。また、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおいては、溶出溶媒としてメタノール／水混合液のグラジエントを用いると、95％程度の濃度のメタノールで本発明の化合物が溶出される。

得られたフラクションは、さらにHPLC等により精製することができる。

[0032] 上記のようにして得られる化合物又はそれを含む組成物が、本発明の化合物を含むことは、例えば、後述の実施例に示す方法によって確認することができる。例えば、アグリコン部にグルコースが結合した配糖体であることは、また、アグリコン部が4－メチルエルゴスト－7－エン－3－オールであることは、 $^{13}\text{C}$ －NMR等によって確認することができる。

[0033] 本発明の化合物は、D－グルコースと、4－メチルエルゴスト－7－エン－3－オールを縮合させることによっても、製造することができる。4－メチルエルゴスト－7－エン－3－オールは、植物より抽出および精製を行うことによっても入手することができる。

。D-グルコースと、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールとの縮合は、例えば、第4版実験化学講座26、1992年(第272頁、第297頁、及び第342頁に記載)、に示している方法を組み合わせて行うことができる。すなわち、D-グルコースを完全アセチル化後、アノマー位を $\alpha$ -ブロミドに変換する。ジエチルエーテル中、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールを $\alpha$ -ブロミドと反応させて $\beta$ -グリコシル化した後、ナトリウムメトキシド・メタノール中でアセチル基を加水分解し、目的化合物を得る。

- [0034] 本発明の化合物は、ヘモグロビンA1cの値を低下させる作用を有し、その結果、長期間血糖値をコントロールすることができる。したがって、高血糖改善剤の有効成分として使用することができる。
- [0035] また、従来、アロエベラの葉皮には、緩下作用を持つバルバロインやアロエエモジンが含まれており、緩下作用を期待しない医薬又は飲食品としては、好ましくないと考えられている。一方、本発明の組成物は、好ましい態様においては、食経験上安全に摂取できるアロエベラの葉肉(透明ゲル部分)から抽出、分画することによって得ることができるため、バルバロインあるいはアロエエモジンが含まれず、かつ、本発明の化合物を有効量含む。したがって、本発明の組成物も、高血糖改善剤の有効成分として好適である。
- [0036] 本発明の化合物又は組成物は、そのまま本発明の薬剤または飲食品の有効成分として利用することが可能である。また、本発明の組成物は、溶液であってもよく、常法により凍結乾燥または噴霧乾燥して粉末として保存、使用することもできる。
- [0037] 本発明の薬剤は、本発明の化合物又は組成物、若しくはこれらを製剤学的に許容される製剤担体と組み合わせて、経口的、又は非経口的にヒトを含む哺乳動物に投与することができる。尚、本発明の薬剤において、本発明の化合物は医薬に許容される塩にすることができる。医薬に許容可能な塩として、金属塩(無機塩)と有機塩との両方が含まれ、それらのリストは「レミントン・ファーマシューティカル・サイエンシーズ(Remington's Pharmaceutical Sciences)、第17版、第1418ページ、1985年」に掲載されているものが例示される。具体的には塩酸塩、硫酸塩、リン酸塩、二リン酸塩、臭化水素酸塩および硫酸塩などの無機酸塩や、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、フマル酸

塩、酒石酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、乳酸塩、メタンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、パモ酸塩、サリチル酸塩及びステアリン酸塩などの有機酸塩が非限定的に含まれる。また、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アルミニウム等の金属の塩、リジン等のアミノ酸との塩とすることもできる。また、上記化合物もしくはその医薬上許容される塩の水和物等の溶媒和物も本発明に含まれる。

[0038] 本発明の薬剤の製剤形態は特に限定されず、治療目的に応じて適宜選択でき、具体的には、錠剤、丸剤、散剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤、カプセル剤、シロップ剤、坐剤、注射剤、軟膏剤、貼付剤、点眼剤、点鼻剤等を例示できる。製剤化にあたっては製剤担体として通常の高血糖改善用医薬に汎用される賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、安定剤、矯味矯臭剤、希釈剤、界面活性剤、注射剤用溶剤等の添加剤を使用できる。また、本発明の効果を損わない限り、本発明の化合物又は組成物と、他の高血糖改善作用を有する薬剤とを併用してもよい。

[0039] 本発明の薬剤中に含まれる本発明の化合物又は組成物の量は、特に限定されず適宜選択すればよいが、例えば、本発明の化合物の量として、製剤中に0.001～10質量%、好ましくは0.01～1質量%、特に好ましくは0.05～1質量%とするのがよい。

[0040] 本発明の薬剤は、高血糖状態により引き起こされる疾患、例えば糖尿病及び前糖尿病(糖尿病として疑われる状態)の治療又は予防に有用である。特に、高血糖状態から糖尿病の発症を予防するために用いることもできる。

[0041] 本発明の医薬は、前記本発明の薬剤(高血糖改善剤)を含むものであり、高血糖状態により引き起こされる疾患、例えば糖尿病及び前糖尿病(糖尿病として疑われる状態)の治療又は予防に有用である。特に、高血糖状態から糖尿病の発症を予防するために用いることもできる。さらに、本発明の医薬は、高血糖状態に起因する種々の疾病・合併症等の治療又は予防、並びにこれら疾病・合併症等のリスクを低減することが可能である。

かかる高血糖状態に起因する種々の疾病・合併症としては、糖尿病性網膜症、糖尿病性腎症、糖尿病性神経障害、糖尿病性壊疽、糖尿病に起因する脳卒中、糖尿病に起因する心筋梗塞等を例示することができる。

- [0042] 尚、高血糖状態とは、正常領域以外の状態であり、正常領域とは、一般的には空腹時血糖値 $110\text{mg/dl}$ 以下で、 $75\text{g}$ 糖負荷後の1時間での血糖値 $160\text{mg/dl}$ 以下および2時間での血糖値 $120\text{mg/dl}$ 以下と規定している状態である(日本臨床、通巻第806号、第1巻、第28～35ページ、2002年)。また、本発明の薬剤は、ヘモグロビンA1cの値が健常人値より高い状態、例えば、ヘモグロビンA1cの値が $5.8\%$ 以上である患者に対する治療に好適に用いられる。
- [0043] 本発明の薬剤又は医薬の投与時期は特に限定されず、対象となる疾患の治療方法に従って、適宜投与時期を選択することが可能である。また、投与形態は製剤形態、患者の年齢、性別、その他の条件、患者の症状の程度等に応じて決定されることが好ましい。
- 本発明の薬剤の有効成分の投与量は、用法、患者の年齢、性別、疾患の程度、その他の条件等により適宜選択される。通常有効成分としての本発明の化合物の量は、好ましくは $0.01\sim 10\text{mg/kg/日}$ 、より好ましくは、 $0.1\sim 1\text{mg/kg/日}$ での範囲となる量を目安とするのが良く、また、本発明の組成物を用いる場合は、組成物の乾燥重量として好ましくは $0.1\sim 1000\text{mg/kg/日}$ 、より好ましくは、 $1\sim 100\text{mg/kg/日}$ となるような量を目安とするのが良い。いずれの場合も、1日1回又は複数回に分けて投与することができる。
- [0044] 本発明の薬剤もしくは医薬、又はそれらの有効成分である本発明の化合物又は組成物は、飲食品(飲料又は食品)に含有させることもできる。飲食品としては、前記有効成分の効果を損なわず、経口摂取できるものであれば形態や性状は特に制限されず、前記有効成分を含有させること以外は、通常飲食品に用いられる原料を用いて通常の方法によって製造することができる。
- [0045] 本発明の飲食品中に含まれる本発明の化合物又は組成物の量は、特に限定されず適宜選択すればよいが、例えば、本発明の化合物の量として、飲食品中に $0.0001\sim 1$ 質量%、好ましくは $0.001\sim 1$ 質量%、特に好ましくは $0.005\sim 1$ 質量%とするのがよい。
- [0046] 本発明の飲食品における用途としては、高血糖改善の効果を利用するような種々の用途をとることが可能である。例えば、血糖値が気になり始めた方に適した飲食品

、糖尿病等の生活習慣病の危険要因の低減・除去に役立つ飲食品等の用途を例示することができる。

[0047] 尚、本発明の飲食品において、「高血糖改善」とは、高血糖に起因して導かれる種々の健康への害を改善又は予防する事を意味しており、「高血糖予防」、「血糖値上昇抑制」、「血糖値上昇改善」、「血糖値上昇予防」、「高ヘモグロビンA1c値改善」等も、前記「高血糖改善」と同様の意味として、本発明において例示することができる。

[0048] また、本発明の飲食品は、高血糖状態により引き起こされる疾患、例えば糖尿病及び前糖尿病(糖尿病として疑われる状態)の予防に有用である。特に、高血糖状態から糖尿病の発症を予防するために用いることもできる。さらに、本発明の飲食品は、高血糖に起因する種々の疾病・合併症等の予防、並びにこれら疾病・合併症等のリスクを低減することが可能である。

[0049] かかる高血糖状態に起因する種々の疾病・合併症としては、糖尿病性網膜症、糖尿病性腎症、糖尿病性神経障害、糖尿病性壊疽、糖尿病に起因する脳卒中、糖尿病に起因する心筋梗塞等を例示することができる。

[0050] 本発明の飲食品は、高血糖改善のために用いられるものである旨の表示を付した飲食品、例えば「高血糖改善用と表示された、高血糖改善効果を有する化合物を含有する飲食品」、あるいは「高血糖改善用と表示された、植物抽出物を含有する飲食品」、「高血糖改善用と記載された、アロエベラ抽出物を含有する飲食品」、等として販売することが好ましい。

[0051] 尚、本発明の化合物又は組成物等は、高血糖改善作用を有することから、高血糖改善の表示には、血糖上昇を抑制する意味も有すると考えられる。したがって、本発明の飲食品は、「血糖上昇抑制用」と表示することができる。すなわち、前記高血糖改善用の表示とは、このような「血糖上昇抑制用」の表示であってもよい。

[0052] 尚、以上のような表示を行うために使用する文言は、「高血糖改善用」、又は「血糖上昇抑制用」という文言のみに限られるわけではなく、それ以外の文言であっても、高血糖を改善、又は血糖値の上昇を抑制、する効果を表す文言であれば、本発明の範囲に包含されることはいうまでもない。そのような文言としては、例えば、需要者に対して、高血糖改善又は血糖値上昇抑制の効果を認識させるような種々の用途に

基づく表示も可能である。例えば、「血糖値が気になり始めた方に適した」、「糖尿病等の生活習慣病の危険要因(リスク)の低減・除去に役立つ」等の表示を例示することができる。

[0053] 前記「表示」とは、需要者に対して上記用途を知らしめるための全ての行為を意味し、上記用途を想起・類推させうるような表示であれば、表示の目的、表示の内容、表示する対象物・媒体等の如何に拘わらず、すべて本発明の「表示」に該当する。しかしながら、需要者が上記用途を直接的に認識できるような表現により表示することが好ましい。具体的には、本発明の飲食品に係る商品又は商品の包装に上記用途を記載する行為、商品又は商品の包装に上記用途を記載したものを譲渡し、引き渡し、譲渡若しくは引渡しのために展示し、輸入する行為、商品に関する広告、価格表若しくは取引書類に上記用途を記載して展示し、若しくは頒布し、又はこれらを内容とする情報に上記用途を記載して電磁氣的(インターネット等)方法により提供する行為、等が例示できる。

[0054] 一方、表示としては、行政等によって認可された表示(例えば、行政が定める各種制度に基づいて認可を受け、そのような認可に基づいた態様で行う表示)であることが好ましく、特に包装、容器、カタログ、パンフレット、POP等の販売現場における宣伝材、その他の書類等への表示が好ましい。

[0055] また、例えば、健康食品、機能性食品、経腸栄養食品、特別用途食品、栄養機能食品、医薬用部外品等としての表示を例示することができ、その他厚生労働省によって認可される表示、例えば、特定保健用食品、これに類似する制度にて認可される表示を例示できる。後者の例としては、特定保健用食品としての表示、条件付き特定保健用食品としての表示、身体の構造や機能に影響を与える旨の表示、疾病リスク低減表示等を例示することができ、詳細にいえば、健康増進法施行規則(平成15年4月30日日本国厚生労働省令第86号)に定められた特定保健用食品としての表示(特に保健の用途の表示)、及びこれに類する表示が、典型的な例として列挙することが可能である。

## 実施例 1

[0056] 次に実施例を示して本発明を更に具体的に説明するが、本発明は以下の実施例

に限定されるものではない。

[0057] [製造例1]

以下、アロエベラからの3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール<sup>1</sup>の製造例を示す。

[0058] アロエベラから、3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール<sup>1</sup>を、以下に示すようにして抽出、精製した。

アロエベラの葉肉(透明ゲル部分)100kgを、ホモジナイザーを用いて液状化し、ここに100Lの酢酸エチル/ブタノール混合液(3:1)を添加して攪拌した。

一晩放置した後、酢酸エチル/ブタノール混合液と水層を分液して、酢酸エチル/ブタノール混合液を回収した。この酢酸エチル/ブタノール混合液を減圧下濃縮して得られた、酢酸エチル/ブタノール混合液抽出物の重量は、13.5gであった。

[0059] 上記水層及び酢酸エチル/ブタノール混合液抽出物を用いて、後述する糖尿病モデルマウスを用いた高血糖改善作用の評価を行ったところ、酢酸エチル/ブタノール混合液抽出物に同作用が認められたので、この抽出物中の成分の分離、精製を試みた。まず、前記抽出物を薄層クロマトグラフィー(メルク社製、シリカゲル60F254及びRP-18F2543)により検討した結果、クロロホルム/メタノール混合液を用いた順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分離方法が適切であると考えられた。そこで、シリカゲル60(メルク社製)を400g充填したカラムに、前記抽出物13gを1mlのクロロホルム/メタノール混合液(1:1)に溶解させた溶液を流してカラムに吸着させた後、クロロホルム/メタノール混合液を使用し、メタノール濃度を段階的に上昇させるステップワイズグラジエント法(クロロホルム:メタノール=100:1、25:1、10:1、5:1及び1:1の各混合比)により溶出し、前記混合液の混合比毎に溶出液を分画した。各フラクションの溶媒除去後の粗精製物収量は、それぞれ1.44g、3.0g、1.17g、1.28g、2.27gであった。これらのフラクションのうち、クロロホルム:メタノール=5:1で溶出されたフラクション(粗精製物A)に活性成分が存在することを、前記モデル動物を用いた方法で確認した。また、薄層クロマトグラフィーで分析したところ、バルバロインおよびアロエエモジンの存在は確認されなかった。

[0060] さらに、上記粗精製物Aから活性成分の分離精製を行うため、この粗精製物Aを薄



層クロマトグラフィー（メルク社製、シリカゲル60F254及びRP-18F2543）を用いて検討したところ、メタノールを用いた逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分離方法が適切であると考えられた。そこで、上記粗精製物Aを1mlのクロロホルム／メタノール混合液（1：1）に溶解させ、コスモシール140（ナカライテスク社製）を180g充填したカラムに流してカラムに吸着させた後、メタノール85%溶液、600ml、メタノール95%溶液、600ml、メタノール100%、100mlで、順次溶出した。3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールは、95%メタノールの溶出フラクションに濃縮分離されており、その溶媒除去後の重量は370mgであった。以下、このものを化合物1という。

[0061] 化合物1を、薄層クロマトグラフィーの検討を行った結果、β-シトステロールグルコシドにきわめて近いR<sub>f</sub>値を示すことから、アグリコン部に糖が1分子結合している配糖体であることが予測された。さらに、化合物1の糖組成について調べる為、化合物1を、メタノリシス後、TMS誘導体として、GC-MSを用いた測定を行った。その結果、化合物1の糖部分のTMS誘導体を測定した場合のメインピークは、リテンションタイム14.28min, 14.61min, 16.34minに見られ、標品グルコース（ナカライテスク社製）のメインピークである14.27min, 14.60min, 16.33minとほぼ一致した。また、標品ガラクトース（キシダ社製）および標品キシロース（キシダ社製）のメインピークに該当するピークは見られなかった。よって、化合物1に含まれている糖の種類は、グルコースであることが確認された。

[0062] 以上の結果より、化合物1はアグリコン部にグルコースが1分子結合している配糖体であることが推定された。しかし、化合物1を<sup>13</sup>C-NMR（125MHz、CDCl<sub>3</sub>）にて測定した結果、夾雑物の存在が確認されたため、構造決定にはさらなる精製が必要と考えられた。そこで、化合物1をメタノリシスした後、アセチル化してアグリコン部の構造、およびアグリコン部と糖との結合部位の確認を行った。以下にその方法を示す。

[0063] 50mgの化合物1を5%塩酸を含むメタノール（50ml）に溶解した後、6時間加熱還流してメタノリシスした後、乾燥させて残渣を得た（約30mg）。当該残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン：クロロホルム＝9：1）で精製して化合物2（10mg）を得た。当該化合物2（5mg）に無水酢酸・ピリジン（各2滴）を加えて70℃で30分加

熱してアセチル化した後、反応液の溶媒を留去して、化合物3を得た。当該化合物3を、GC-MSおよび、 $^{13}\text{C}$ -NMR (125MHz、 $\text{CDCl}_3$ )にて分析を行った結果を、各々、図1および図2に示す。測定条件及び結果は、以下の通りである。また、標準物質として用いた3-アセトキシ-4-メチルエルゴスト-7-エンは、アロエより抽出精製した後、 $^{13}\text{C}$ -NMRにて構造を確認した後、アセチル化して製造した。

[0064] [ $^{13}\text{C}$ -NMRスペクトル(d values, in  $\text{CDCl}_3$ )] ; C-1:36.8, C-2:27.3, C-3:78.7, C-4:37.0, C-5:46.9, C-6:26.8, C-7:117.4, C-8:139.4, C-9:49.7, C-10:34.9, C-11:21.6, C-12:39.7, C-13:43.6, C-14:55.1, C-15:23.1, C-16:28.2, C-17:56.3, C-18:12.0, C-19:14.2, C-20:36.5, C-21:19.0, C-22:33.9, C-23:30.6, C-24:39.1, C-25:32.6, C-26:20.4, C-27:18.4, C-28:15.6, C-29:15.3

[0065] [GC-MS]

装置:GC-17A/GCMS5050A(SHIMADZU)

GCカラム:NEUTRA BOND-5(GL Sciences)

カラム温度:100°C(2分)→(10°C/分)→300°C(28分)

注入温度:250°C,

キャリアガス:He (1.3mL/分)

インターフェイス温度:300°C

MSモード:EI

イオン化エネルギー:70eV

[0066] [結果]

標準物質:3-アセトキシ-4-メチルエルゴスト-7-エン:tR [min]=39.4; m/z 456[M]<sup>+</sup>, 441[M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 396[M-AcOH]<sup>+</sup>, 381[M-CH<sub>3</sub>-AcOH]<sup>+</sup>  
化合物3:tR[min]=39.2; m/z 456[M]<sup>+</sup>, 441[M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 396[M-AcOH]<sup>+</sup>, 381[M-CH<sub>3</sub>-AcOH]<sup>+</sup>

[0067] NMRの測定結果より、化合物3は3-アセトキシ-4-メチルエルゴスト-7-エンの文献値と一致した(油化学、第36巻、第5号、第301~319ページ、1987年)。この結果より化合物2は4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールであることが判明した。また、FAB-MSを用いた測定の結果、化合物1の分子量は576であった。化

化合物2(アグリコン部)とグルコースを脱水縮合した場合、得られる化合物の分子量は、 $414(\text{化合物2}) + 180(\text{グルコース}) - 18(\text{水}) = 576$ となり、化合物1の分子量と一致した。

以上の結果より、化合物1の構造は、3-O- $\beta$ -D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールであることが明らかとなった。

以下それぞれの分子式、分子量、化学式を示す。

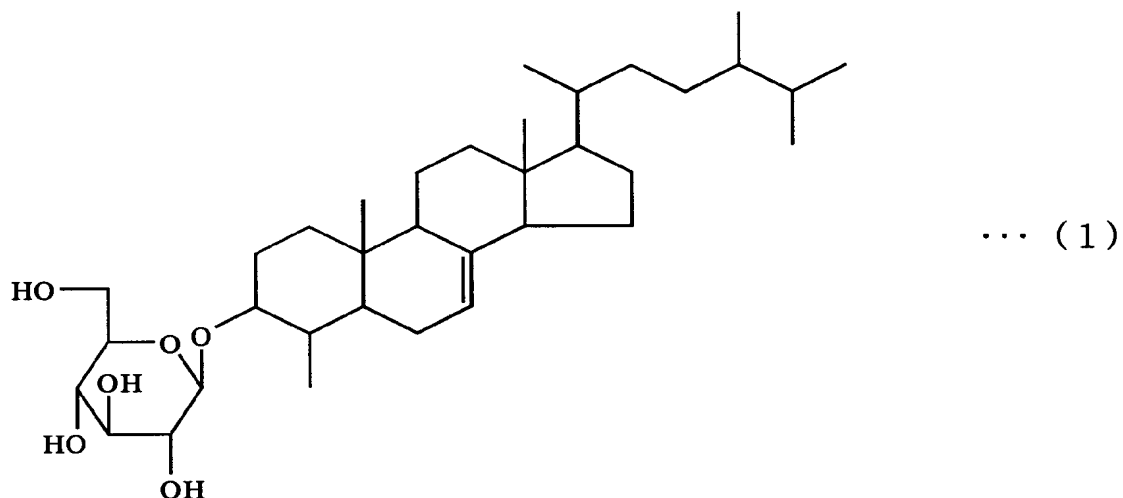
[0068] (化合物1)

分子式:  $\text{C}_{35}\text{H}_{60}\text{O}_6$

分子量: 576

化学式: 下記化学式(1)

[0069] [化2]



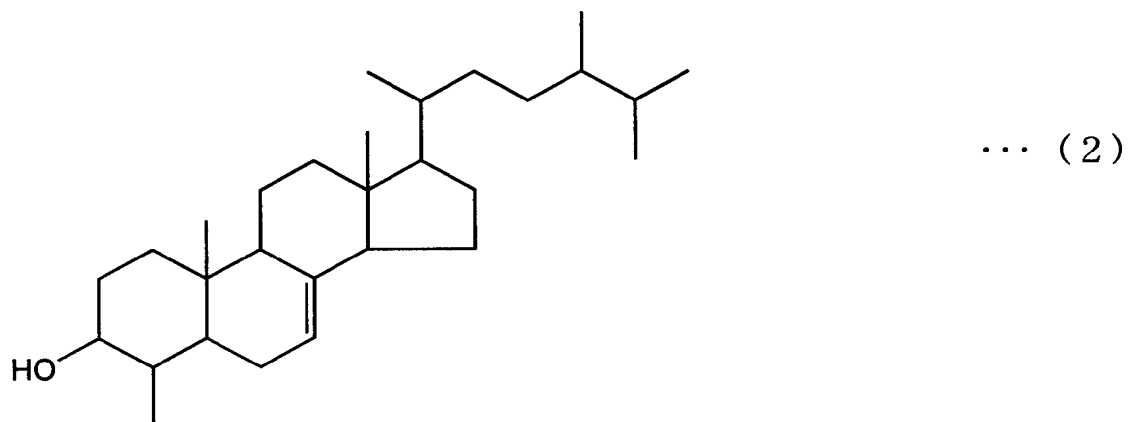
[0070] (化合物2)

分子式:  $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$

分子量: 414

化学式: 下記化学式(2)

[0071] [化3]



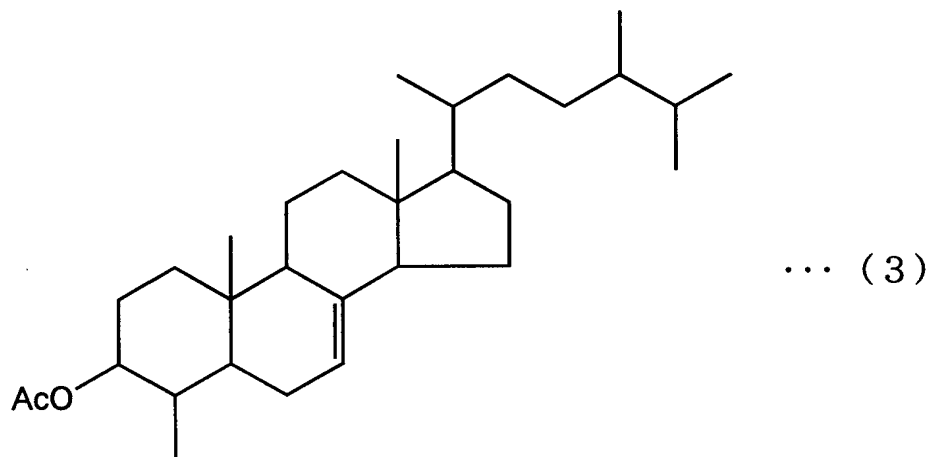
[0072] (化合物4)

分子式:  $C_{31}H_{52}O_2$ 

分子量: 456

化学式: 下記化学式(3)

[0073] [化4]



[0074] [製造例2]

アロエベラの葉肉(透明ゲル部分)を加熱乾燥し、粉碎した乾燥アロエベラ粉末0.3gに、60%、80%、又は100%エタノール60mlを加えた後、60℃で1時間加熱還流した。抽出液を1500rpmで20分間遠心分離し、上清を減圧下で濃縮して完全にエタノールを除去して、粗抽出物を得た。60%、80%、及び100%エタノールを用いた抽出により得られた粗抽出物の乾燥重量は、各々65mg、42mg、18mgであった。

。これらの粗抽出物が3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールを含むことを、薄層クロマトグラフィーで確認した。

[0075] [製造例3]

アロエベラの葉肉(透明ゲル部分)を加熱乾燥し、粉碎した乾燥アロエベラ粉末0.3gに、水60mlを加えた後、95℃で5時間加熱還流した。抽出液を1500rpmで20分間遠心分離し、上清を凍結乾燥して、75mgの粗抽出物を得た。この粗抽出物が3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールを含むことを、薄層クロマトグラフィーで確認した。

[0076] [製造例4]

アロエベラの葉肉(透明ゲル部分)を加熱乾燥し、これを粉碎し、さらに乾燥して調製したアロエベラ粉末21kgに、クロロホルム/メタノール混合液(2:1)90リットルを加えた後、室温にて一晚浸漬した後、濾過し、濾過残渣に再びクロロホルム/メタノール混合液(2:1)90リットルを添加して、同様の操作を計4回行った。得られた濾液(350リットル)を28℃で濃縮し、最終的に粗抽出物784gを得た。このうち、780gの粗抽出物に、クロロホルム/メタノール混合液(2:1)2リットルを添加し、1時間攪拌した後、濾過して、クロロホルム/メタノール混合液層を回収した(A)。濾過残渣は、水2.5リットル及び酢酸エチル2リットルを順次添加して1時間攪拌後、酢酸エチル層(B)を回収し、残った水層にクロロホルム5リットルを再度添加し、1時間攪拌後、クロロホルム層(C)を回収した。

[0077] 回収したA、B、及びCの有機溶媒抽出液を混合して、23℃にて濃縮した後、シリカゲルカラム[ガラスカラム:52mm×350mm、充填剤:IR-63/210-W(ダイソー株式会社製)]に添加した。引き続いて、薄層クロマトグラフィーで溶出物をモニタリングしながら、ヘキサン/クロロホルム混合液(1:1)を10リットル、クロロホルムを10リットル、クロロホルム/メタノール混合液(10:1)を20リットル、クロロホルム/メタノール混合液(5:1)を20リットルの順にカラムに通液し、各溶出溶媒の順に、フラクション1(約1リットル)、フラクション2(約1.5リットル)、フラクション3(約1.5リットル)、フラクション4(約1.5リットル)を回収した。

[0078] このうち、フラクション3に目的の配糖体を含むことを薄層クロマトグラフィーで確認し

た後、溶媒を除去し、粗抽出物131.6gを得た。この粗抽出物130gについて、再度、シリカゲルカラム〔ガラスカラム：70mm×500mm、充填剤：SP-60-40/60（ダイソー株式会社製）〕に添加し、クロロホルム／メタノール混合液（30：1）を10リットル、クロロホルム／メタノール混合液（20：1）を50リットル、クロロホルム／メタノール混合液（10：1）を10リットル、クロロホルム／メタノール混合液（1：1）を10リットルをそれぞれ溶出溶媒として、圧：10kgfcm<sup>-2</sup>、流速：40ml/minの条件で順次溶出させた。溶出液は、フラクションコレクターによって100mlずつ分画し、フラクション1～8を回収した。

[0079] 回収したフラクションを薄層クロマトグラフィーで確認した結果、フラクション7に目的とする配糖体と夾雑物が存在していることが明らかとなったことから、このフラクションを濃縮し、再度、シリカゲルカラム〔ガラスカラム：70mm×500mm、充填剤：SP-60-40/60（ダイソー株式会社製）〕に添加して、クロロホルム／メタノール混合液（20：1）を10リットル、クロロホルム／メタノール混合液（10：1）を10リットルをそれぞれ溶出溶媒として、圧：10kgfcm<sup>-2</sup>、流速：40ml/minの条件で順次溶出させた。その結果、クロロホルム／メタノール混合液（10：1）の溶出画分に含まれる目的の配糖体である3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールを25.3gを製造した。

[0080] [試験例1]

本試験は、3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールの高血糖状態の改善効果を評価するために行った。

[0081] (1) 試料の調製

前記製造例1で製造した3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールを試験試料とした。

[0082] (2) 試験方法

II型糖尿病モデルマウスとして、6週齢、雄性db/dbマウス（日本クレア社より購入）を使用した。当該マウスを1群7匹に群分けした。試験試料をDMSOに溶解した後、生理食塩水にて、3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールの濃度を15μg/mlに調整した。最終DMSO濃度は、0.2%に調整した。当該II型糖尿病モデルマウスに1日1回ゾンデを用いて試験試料溶液を1ml

ずつ連日経口投与した。尚、試験試料を含まない溶液を陰性試料とした。空腹時血糖値および、通常血糖値は、アントセンスII(バイエル三共社製)にて経時的に測定した。空腹時血糖値は、15時間の絶食の後に測定を行った。

[0083] (3) 高血糖改善効果

図3および図4に、通常血糖値、および空腹時血糖値の試験試料投与期間中の経時的変化を示す。陰性試料を投与したマウスでは、通常血糖値及び空腹時血糖値のいずれにおいても急激な血糖値の上昇が観察されたが、試験試料を連続投与したマウスにおいては、明らかに血糖値の上昇を抑制する効果が観察された。

[0084] [試験例2]

本試験は、3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール(3-O-β-D-glucopyranosyl-4-methylergosterol)のヘモグロビンA1cの低下作用を評価するために行った。

[0085] (1) 試料の調製

前記製造例1で製造した3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールを試験試料とした。

[0086] (2) 試験方法

II型糖尿病モデルマウスとして、6週齢、雄性db/dbマウス(日本クレア社より購入)を使用した。当該マウスを1群7匹に群分けした。試験試料をDMSOに溶解した後、生理食塩水にて、3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールの濃度を1、5、15 μg/mlに調整した。最終DMSO濃度は、0.2%に調整した。当該II型糖尿病モデルマウスに1日1回ゾンデを用いて各試験試料溶液を1mlずつ連日経口投与した。尚、試験試料を含まない溶液を陰性試料とした。投与開始から35日目に、ヘモグロビンA1cをDCA2000(バイエル三共社製)にて測定した。

[0087] (3) ヘモグロビンA1c低下作用

投与開始から35日目のヘモグロビンA1cの測定結果を表1に示す。陰性試料を投与したときのヘモグロビンA1cの値に比べ、5又は15 μgの試験試料の連続投与では、統計学的に有意なヘモグロビンA1cの低下が見られ、長期間での血糖値コントロール効果があることが示された。また、投与期間中、副作用の症状および投与後低

血糖状態を引き起こした例は一度もなく、体重および病理的な所見からも異常は認められなかった。

[0088] [表1]

表 1

試料	投与 3 5 日目	
	血中ヘモグロビンA1c相対値 (%)	p値
試験試料 ( 1 $\mu$ g )	98.6 $\pm$ 7.3	
試験試料 ( 5 $\mu$ g )	89.6 $\pm$ 7.9*	0.017
試験試料 (15 $\mu$ g )	73.5 $\pm$ 8.6*	0.00001
陰性試料	100	

\* : 統計学的に有意差が認められた。

[0089] [試験例3]

本試験は、アロエベラ由来の3-O- $\beta$ -D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールを含む抽出粗精製物AのヘモグロビンA1cの低下作用および投与量の検討を行うために行った。

[0090] (1) 試料の調製

前記製造例1で製造した3-O- $\beta$ -D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールを含む抽出粗精製物Aを用いた。

[0091] (2) 試験方法

II型糖尿病モデルマウスとして、6週齢、雄性db/dbマウス(日本クレア社より購入)を使用した。当該マウスを1群7匹に群分けした。試験試料をDMSOに溶解した後、生理食塩水にて、抽出粗精製物Aの濃度を25、100、200  $\mu$  g/mlに調整した。最終DMSO濃度は、0.2%に調整した。当該II型糖尿病モデルマウスに1日1回ゾンドを用いて各試験試料溶液を1mlずつ連日経口投与した。尚、試験試料を含まない溶液を陰性試料とした。投与開始から35日目にヘモグロビンA1cをDCA2000(バイエル三共社製)にて測定した。

[0092] (3) 血糖値およびヘモグロビンA1c値

投与開始から35日目のヘモグロビンA1cの測定結果を表2に示す。陰性試験のヘ



モグロビンA1cの値に比べ、100又は200  $\mu$ gの試験試料の連続投与では、ヘモグロビンA1cの低下が見られ、統計学的有意に長期間での血糖値コントロール効果があることが示された。また、投与期間中、副作用の症状および投与後低血糖状態を引き起こした例は一度もなく、体重および病理的な所見からも異常は認められなかった。

[0093] [表2]

表 2

試料	投与 3 5 日目	
	血中ヘモグロビンA1c相対値 (%)	p値
試験試料 (粗精製物 25 $\mu$ g)	92.5 $\pm$ 7.1	0.1571
試験試料 (粗精製物100 $\mu$ g)	84.9 $\pm$ 8.2*	0.0275
試験試料 (粗精製物200 $\mu$ g)	82.0 $\pm$ 8.6*	0.0129
陰性試料	100	

\* : 統計学的に有意差が認められた。

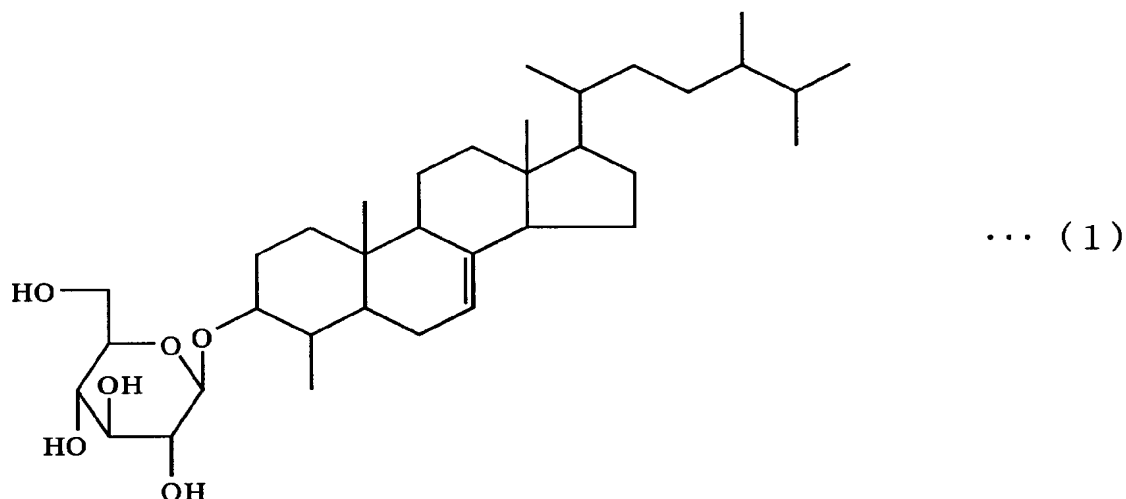
#### 産業上の利用可能性

[0094] 本発明の化合物は、低血糖を引き起こさずに安全に投与又は摂取でき、かつ、ヘモグロビンA1c値を低下させる、長期血糖値コントロール作用を持つ。また、本発明の組成物は、食経験上安全に摂取でき、入手容易な植物であるユリ科植物、例えばアロエ属又はアリウム属植物を使用して製造することができる。また、本発明の組成物は、本発明の化合物を有効量含むものであり、好ましい態様では、医薬又は飲食品として好ましくない成分であるバルバロインあるいはアロエエモジンを含まない。

## 請求の範囲

- [1] 下記化学式(1)で示される構造をもつ化合物。

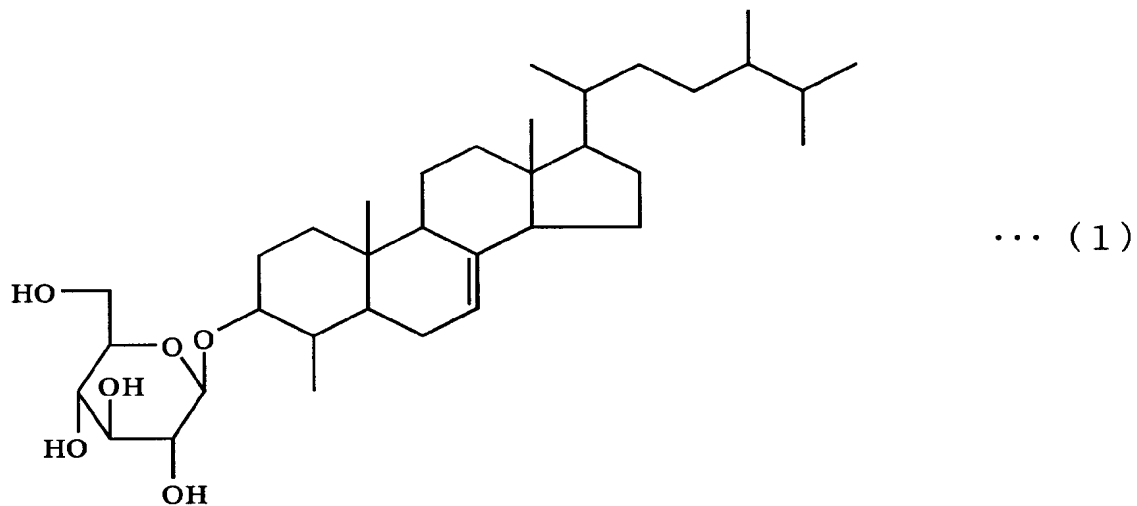
[化1]



- [2] 請求項1に記載の化合物を、乾燥質量で0.001質量%以上含む組成物。
- [3] ユリ科植物の抽出物又はその分画物である、請求項2に記載の組成物。
- [4] ユリ科植物がアロエベラ (*Aloe barbadensis* Miller) である、請求項3に記載の組成物。
- [5] 請求項1に記載の化合物、又は請求項2～4のいずれか一項に記載の組成物を有効成分として含む高血糖改善剤。
- [6] 請求項5に記載の高血糖改善剤を含む医薬。
- [7] 請求項5に記載の高血糖改善剤を含む飲食品。
- [8] 請求項1に記載の化合物、又は請求項2～4のいずれか一項に記載の組成物を有効成分として含み、高血糖改善作用を有するものであることを特徴とし、高血糖改善のために用いられる旨の表示を付した飲食品。
- [9] 請求項1に記載の化合物、又は同化合物を含む組成物の製造方法であって、請求項1に記載の化合物を含むユリ科植物、又はその一部若しくはそれらの破碎物から、同化合物を含む画分を有機溶媒又は熱水を用いて抽出し、及び濃縮することを特徴とする方法。
- [10] ユリ科植物がアロエベラ (*Aloe barbadensis* Miller) である請求項9に記載の方法。

- [11] 高血糖改善用の医薬の製造における、下記化学式(1)に示される構造をもつ化合物又はそれを含む組成物の使用。

[化2]

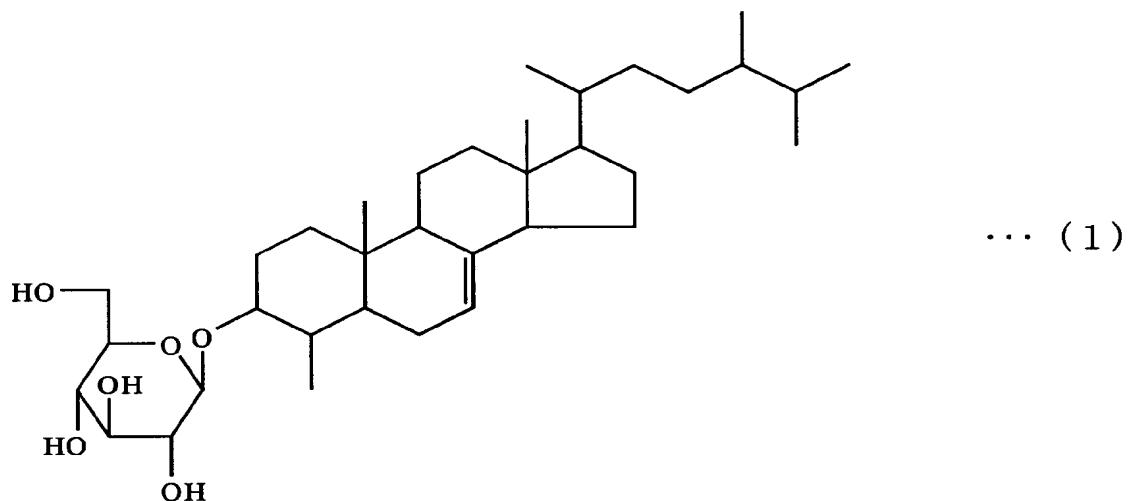


- [12] 前記組成物が、前記化合物を乾燥質量で0.001質量%以上含むユリ科植物の抽出物又はその分画物である、請求項11に記載の使用。

- [13] ユリ科植物がアロエベラ (*Aloe barbadensis* Miller) である請求項12に記載の使用。

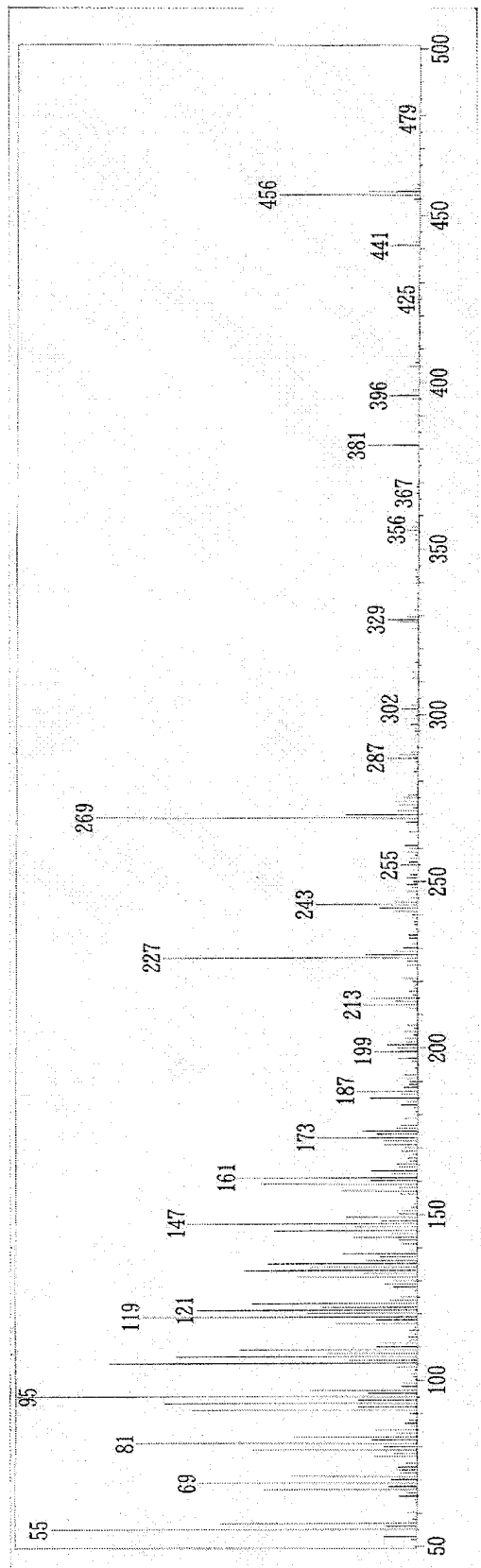
- [14] 高血糖を改善する方法であって、下記化学式(1)に示される構造をもつ化合物又はそれを含む組成物を、高血糖を改善しようとする対象に投与することを特徴とする方法。

[化3]

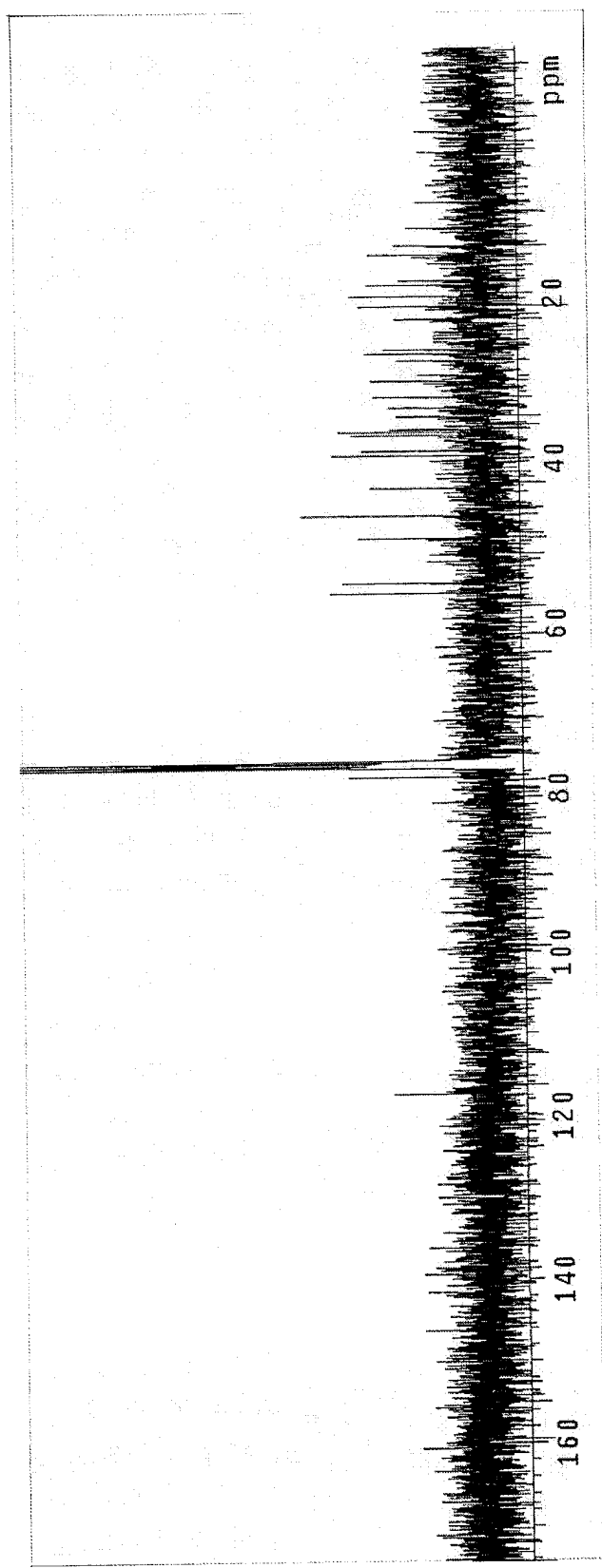


- [15] 前記組成物が、前記化合物を乾燥質量で0.001質量%以上含むユリ科植物の抽出物又はその分画物である、請求項14に記載の方法。
- [16] ユリ科植物がアロエベラ (*Aloe barbadensis* Miller) である請求項15に記載の方法。

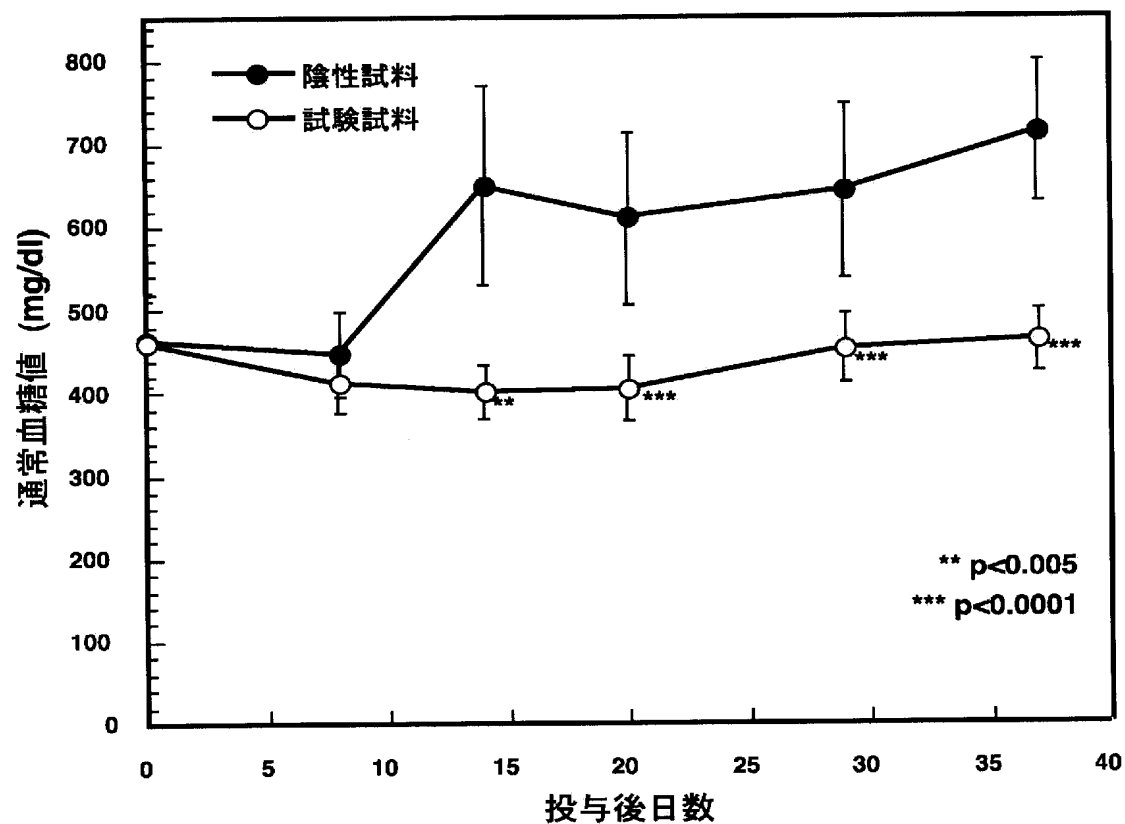
[図1]



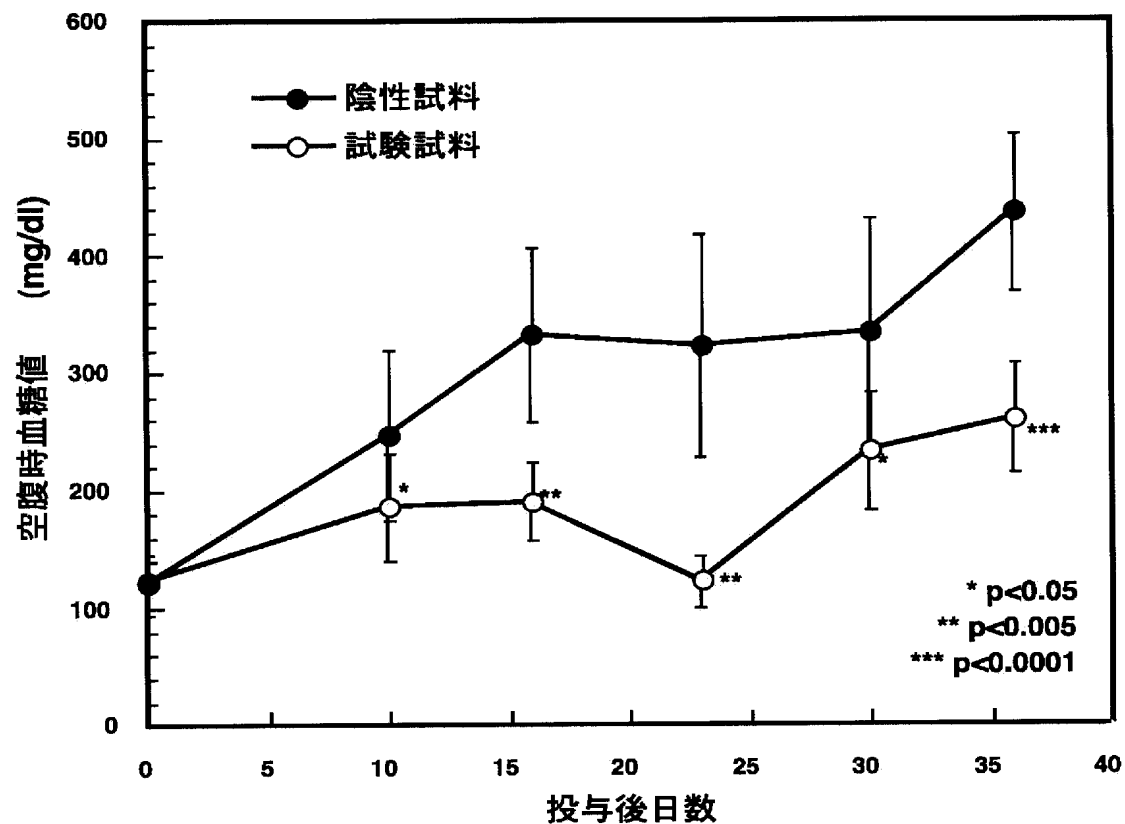
[図2]



[図3]



[図4]



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/006019

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.<sup>7</sup> C07J17/00, A23L1/30, A61K31/704, 35/78, A61P3/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.<sup>7</sup> C07J1/00-75/00, A23L1/00-1/30, A61K31/00-31/80, 35/00-35/78, A61P1/00-43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2005
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2005	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2005

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN), BIOTECHABS (STN), CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), WPI (DIALOG)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	YEH, G.Y. et al., Systematic Review of Herbs and Dietary Supplements for Glycemic Control in Diabetes., Diabetes Care, 2003, 26(4), pages 1277 to 1294, particularly, table 1, page 1287, left column	2-13
X	JP 2003-286185 A (Deiri Fuzu Kabushiki Kaisha), 07 October, 2003 (07.10.03), Full text (Family: none)	2-13
A	ABOU-ZEID, A.H.S., Chemical and Biological Study of the Leaves of some Musa Species., Egypt.J.Pharm.Sci., 1998, 39(4-6), pages 379 to 398	1-13



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T"

later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;"

document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 June, 2005 (22.06.05)

Date of mailing of the international search report

12 July, 2005 (12.07.05)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/006019

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 9-70278 A (Kowa Kagaku Kogyo Kabushiki Kaisha), 18 March, 1997 (18.03.97), & EP 861595 A1	1-13
A	WO 03/059360 A1 (MEDICAL ISOTOPES, INC.), 24 July, 2003 (24.07.03), & AU 2003205100 A1	1-13

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/006019

## Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 14-16  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
The inventions as set forth in claims 14 to 16 pertain to methods for treatment of the human body by therapy.  
(Article 17(2)(a)(i) of the PCT, Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT)
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

### Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.<sup>7</sup> C07J17/00, A23L1/30, A61K31/704, 35/78, A61P3/10

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.<sup>7</sup> C07J1/00-75/00, A23L1/00-1/30, A61K31/00-31/80, 35/00-35/78, A61P1/00-43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2005年
日本国実用新案登録公報	1996-2005年
日本国登録実用新案公報	1994-2005年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN), BIOTECHABS (STN), CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), WPI (DIALOG)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	YEH, G.Y., <i>et al.</i> , Systematic Review of Herbs and Dietary Supplements for Glycemic Control in Diabetes., Diabetes Care, 2003, 26(4), pp.1277-1294, 特に Table 1 および第 1287 頁左欄	2-13
X	JP 2003-286185 A (デイリーフーズ株式会社) 2003.10.07, 全文参照 (ファミリーなし)	2-13

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

22.06.2005

国際調査報告の発送日

12.7.2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)  
郵便番号 100-8915  
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

荒木 英 則

4C

9736

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	ABOU-ZEID, A. H. S., Chemical and Biological Study of the Leaves of some <i>Musa</i> Species., Egypt. J. Pharm. Sci., 1998, 39(4-6), pp. 379-398	1-13
A	JP 9-70278 A (恒和化学工業株式会社) 1997.03.18 & EP 861595 A1	1-13
A	WO 03/059360 A1 (MEDICAL ISOTOPES, INC.) 2003.07.24 & AU 2003205100 A1	1-13

